

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平10-265328

(43)公開日 平成10年(1998)10月6日

| | | | | |
|--------------------------------------|-----------------|--------------|---------------------|---|
| (51)Int.Cl. ⁶ | 識別記号 | F I | | |
| A 6 1 K 7/00 | | A 6 1 K 7/00 | | G |
| | | | | K |
| | | | | W |
| | | | | Y |
| A 2 3 K 1/16 | 3 0 4 | A 2 3 K 1/16 | 3 0 4 C | |
| 審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 13 頁) 最終頁に続く | | | | |
| (21)出願番号 | 特願平9-76019 | (71)出願人 | 000231637 | |
| | | | 日本製粉株式会社 | |
| (22)出願日 | 平成9年(1997)3月27日 | | 東京都渋谷区千駄ヶ谷5丁目27番5号 | |
| | | (72)発明者 | 内野 敬二郎 | |
| | | | 神奈川県厚木市戸室5-23-30 | |
| | | (72)発明者 | 宮下 留美子 | |
| | | | 神奈川県厚木市飯山2625-1-102 | |
| | | (74)代理人 | 弁理士 中村 稔 (外7名) | |

(54)【発明の名称】 化粧品、ペットフード、リパーゼ阻害剤及びそれを含む食品

(57)【要約】 (修正有)

【課題】 皮脂がバクテリア由来リパーゼにより分解されることを防止し、「ふきでもの」「ニキビ」「肌荒れ」「異臭」を持続的に抑制することができる化粧品、リパーゼに起因する変敗や劣化が防止されている、食品やペットフード、栄養過多などの原因から発生する疾病の予防や治療に有用なリパーゼ阻害剤及び食品を提供する。

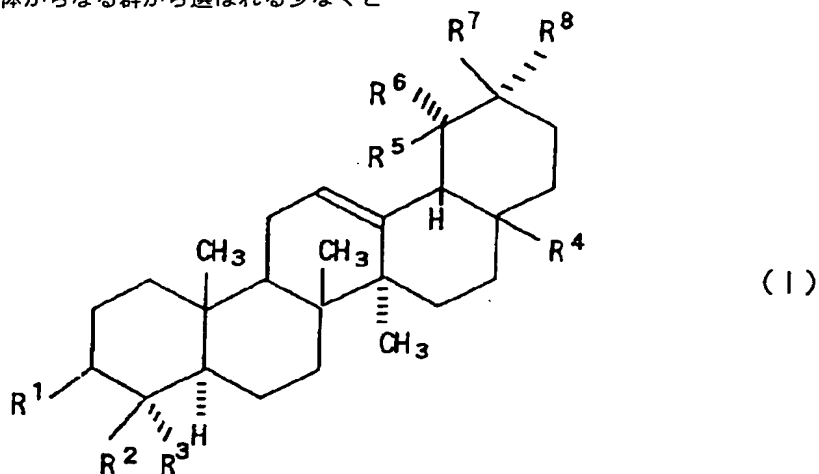
【解決手段】 特定のトリテルペン類化合物及びその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1種を有効成分として含む化粧品；特定のトリテルペン類化合物及びその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1種を有効成分として含むペットフード；トリテルペン類化合物及びその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1種を有効成分として含有するリパーゼ阻害剤；上記リパーゼ阻害剤を配合した食品。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下記一般式 (I) 又は (II) で示される化合物及びその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも

も 1 種を有効成分として含む化粧料。

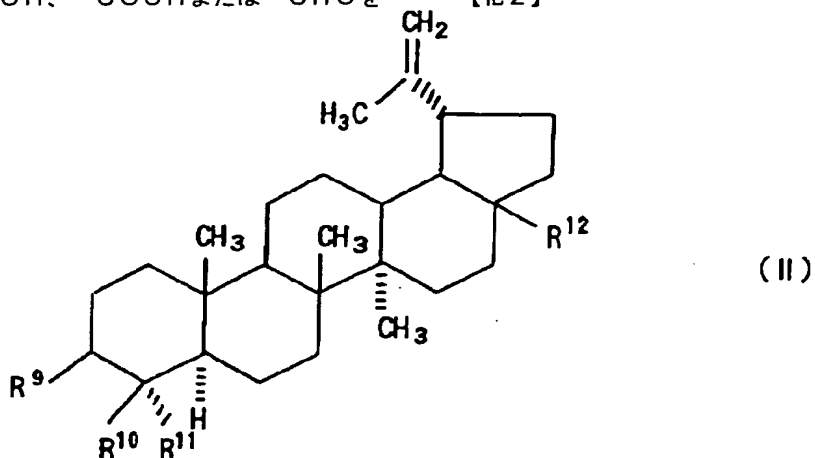
【化 1】



(式中、 R^1 は $-OH$ または $-OC(O)-CH_3$ を表し、 R^2 、 R^3 及び R^4 はそれぞれ独立して水素原子、 $-CH_3$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-COOH$ または $-CHO$ を

表し、 R^5 、 R^6 、 R^7 及び R^8 はそれぞれ独立して水素原子または $-CH_3$ を表す。)

【化 2】



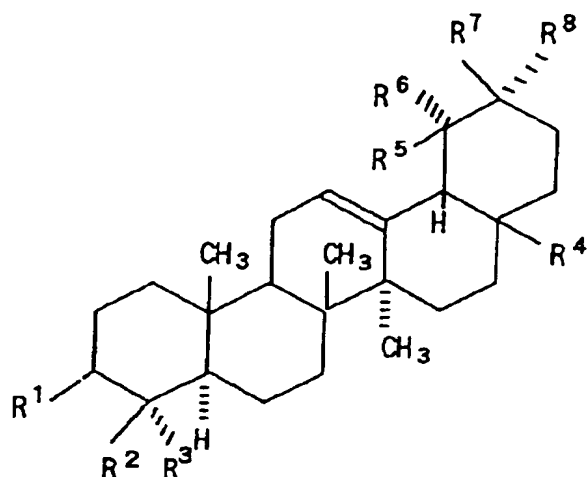
(式中、 R^9 は $-OH$ 又は $-OC(O)-CH_3$ を表し、 R^{10} 、 R^{11} 及び R^{12} はそれぞれ独立して水素原子、 $-CH_3$ 、 $-CH_2OH$ 、 $-COOH$ または $-CHO$ を表す。)

【請求項 2】 有効成分がオレアノール酸、ウルソン酸、ベツリン、ベツリン酸、それらの塩類及びそれらの

アセチル化物から選ばれる少なくとも 1 種である請求項 1 記載の化粧料。

【請求項 3】 下記一般式 (I) 又は (II) で示される化合物及びその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも 1 種を有効成分として含むペットフード。

【化 3】

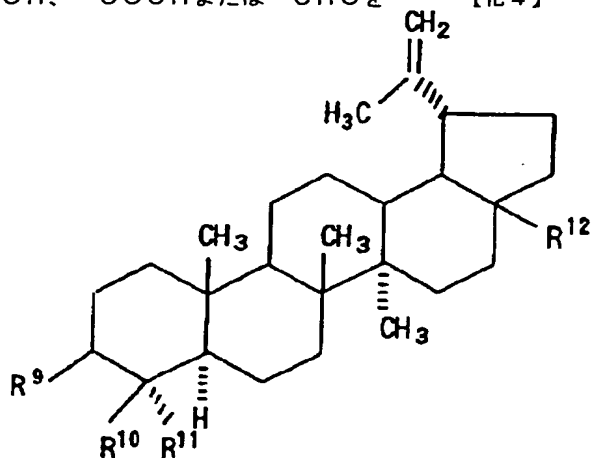


(I)

(式中、 R^1 は $-\text{OH}$ または $-\text{OC}(\text{O})-\text{CH}_3$ を表し、 R^2 、 R^3 及び R^4 はそれぞれ独立して水素原子、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ または $-\text{CHO}$ を

表し、 R^5 、 R^6 、 R^7 及び R^8 はそれぞれ独立して水素原子または $-\text{CH}_3$ を表す。)

【化4】



(II)

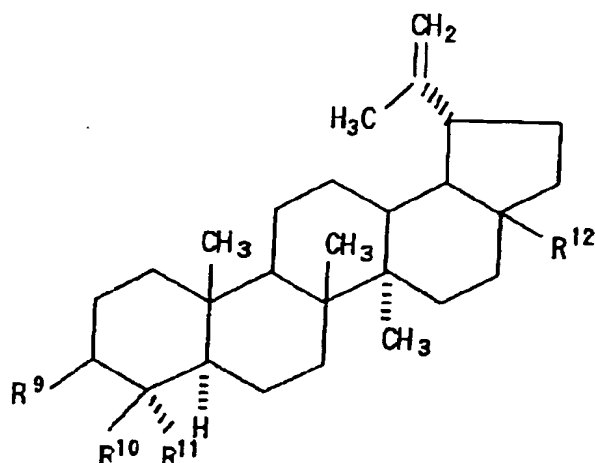
(式中、 R^9 は $-\text{OH}$ 又は $-\text{OC}(\text{O})-\text{CH}_3$ を表し、 R^{10} 、 R^{11} 及び R^{12} はそれぞれ独立して水素原子、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ または $-\text{CHO}$ を表す。)

【請求項4】 有効成分がオレアノール酸、ウルソン酸、ベツリン、ベツリン酸、それらの塩類及びそれらの

アセチル化物から選ばれる少なくとも1種である請求項3記載のペットフード。

【請求項5】 下記一般式(II)記載のトリテルペン類化合物及びその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1種を有効成分として含有するリパーゼ阻害剤。

【化5】



(II)

【請求項6】 誘導体が塩類又はアセチル化物である請求項5記載のリパーゼ阻害剤。

【請求項7】 有効成分がベツリン又はベツリン酸である請求項5記載のリパーゼ阻害剤。

【請求項8】 請求項5～7のいずれか1項記載のリパーゼ阻害剤を配合した食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、リパーゼ阻害物質を配合した化粧料及びペットフード、新規なリパーゼ阻害剤、そのリパーゼ阻害剤を含有する食品に関する。

【0002】

【従来の技術】食品中に含まれる脂肪は、その食品原料に含まれているリパーゼや、食品中に混入した微生物由来のリパーゼにより加水分解を受け、グリセロールと遊離脂肪酸に分解される。この遊離脂肪酸は、変敗や悪臭の原因となり食品の品質保持の観点から遊離脂肪酸の発生を抑制することが重要な課題となっている。また、近年、栄養過多等の原因による種々の成人病が増加している。このような成人病のうち、特に糖尿病、高脂血症、肥満などの予防や治療を目的として、リパーゼ阻害剤といった消化酵素に対する阻害剤が注目されてきている。さらに、食品にあらかじめ酵素に対する阻害剤を配合しておく方法が考えられている。

【0003】また、近年、犬、猫等のペットに栄養過多などの原因から種々の疾病が増加している。このような疾病の例として糖尿病、肥満症等挙げることができるが、これらの疾病の中には、脂質等の過剰摂取による中性脂肪増加が誘因となって起こるものが多くある。このような疾病の治療は、一般には食餌療法が主体となるが、ペットに精神的苦痛を与える上、飼い主等にはカロリー計算等の負担を与えることになる。従って簡便な方法として、ペットに食餌を与える際に、リパーゼ阻害物質を服用させたり飼料中に予め配合しておいて脂質の消化を阻害する方法が考えられている。また、化粧品分野においても、皮膚から分泌される皮脂などの分泌物は、

皮膚表面のバクテリア由来のリパーゼにより分解され脂肪酸が生成し、さらに酸化分解を受けることで、有臭物質の発生や、皮膚細胞を破壊するため、炎症や異臭の原因となることが問題となる。従来は、アルコール類、石鹼等による皮膚の洗浄が行われていたが、すぐに新しい皮脂が分泌され満足する結果が得られていなかった。

【0004】今まで、フォスファチジルコリン (K. Taniguti 等、Bull. Facul. Agric. Meiji Univ., 73巻、9～26頁(1986))、大豆蛋白 (K. Satouchi 等、Agric. Biol. Chem., 38巻、97～101 頁(1974); K. Satouchi 等、Agric. Biol. Chem., 40巻、889～897 頁(1976))、タンニン (S. Ahimura等、日食工 41巻、561～564(1994))、シャクヤク、オオレン、オオバク、ボタンビ、ゲンノショウコ、チャ、クジンなどの生薬の溶媒抽出エキス (特開昭64-90131号公報)、ピーマン、カボチャ、しめじ、まいたけ、ひじき、緑茶、紅茶及びウーロン茶の水抽出物 (特開平3-219872号公報)、ドッカツ、リウキョウ、ピンロウジ、ヨウバイヒ、サンベンズ、ケツメイシの抽出物 (特開平5-255100号公報) などが、リパーゼ阻害活性を有するものとして知られているが、未だ十分な効果は得られていない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、優れたリパーゼ阻害活性を示し、かつ安全性の高いリパーゼ阻害物質を配合した化粧料、ペットフード、食品を提供することである。また本発明の目的は、新規なリパーゼ阻害剤を提供することである。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、安全性、有効性の点で問題を有しない新規なリパーゼ阻害物質を見出すべく鋭意研究した結果、植物成分として知られているトリテルペン類化合物及びその誘導体が強いリパーゼ阻害活性を有することを見だし、本発明を完成するに至った。従って、本発明はトリテルペン類化合物及びその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1種を有効成分として含有する化粧料、及びペットフードに関す

る。本発明はまた、トリテルペン類化合物及びその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1種を有効成分として含有するリパーゼ阻害剤、そのリパーゼ阻害剤を含有する食品に関する。

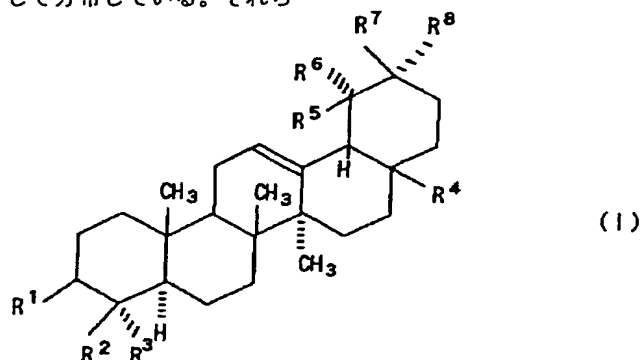
【0007】

【発明の実施の形態】トリテルペン類化合物は、植物界に広く遊離基として存在し、又は糖と結合してサポニン、酸と結合してエステルとして分布している。それら

は極めて毒性の低いものと考えられる。本発明の化粧料、ペットフード、リパーゼ阻害剤、食品における有効成分として具体的に、下記一般式(1)又は(11)で示されるトリテルペン類化合物及びその誘導体から選ばれる少なくとも1種が挙げられる。

【0008】

【化6】

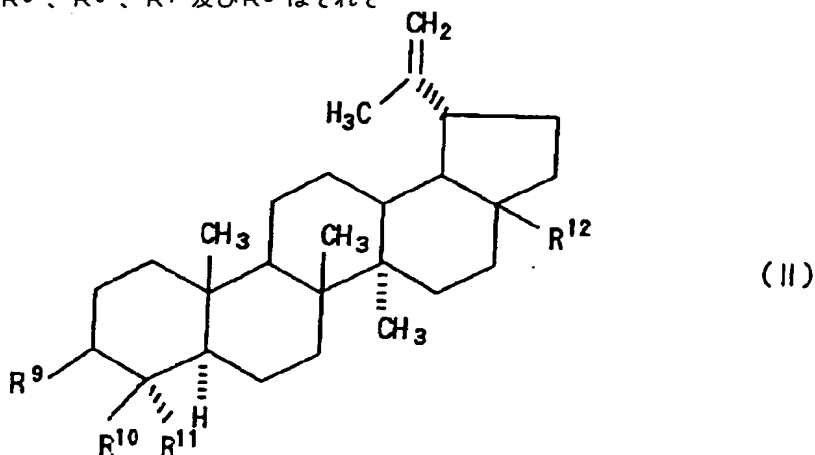


【0009】(式中、R¹ は-OHまたは-OC(O)-CH₃を表し、R²、R³及びR⁴はそれぞれ独立して水素原子、-CH₃、-CH₂OH、-COOHまたは-CHOを表し、R⁵、R⁶、R⁷及びR⁸はそれぞ

れ独立して水素原子または-CH₃を表す。)

【0010】

【化7】



【0011】(式中、R⁹ は-OH又は-OC(O)-CH₃を表し、R¹⁰、R¹¹及びR¹²はそれぞれ独立して水素原子、-CH₃、-CH₂OH、-COOHまたは-CHOを表す。)

誘導体としては塩類、アセチル化物が挙げられる。有効成分の更なる具体例として、オレアノール酸、ウルソン酸、ベツリン酸、ベツリン酸及びそれらのアセチル化物が挙げられる。オレアノール酸、ウルソン酸、ベツリン酸をアセチル化することにより、エタノール、メタノールやクロロホルムといった通常の有機溶媒に対する溶解性を向上させることができ、且つ、より強いリパーゼ阻害活性が示される。また、塩類としては、例えば一般式

(1)又は(11)における-COOHから誘導される塩類を使用することができる。さらに具体的にオレアノール酸、ウルソン酸、ベツリン酸の塩類が挙げられる。それらの塩類としてはリパーゼ阻害活性を有するものであればよく、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、バリウム塩、テトラブチルアンモニウム塩などが挙げられる。本発明の化粧料、ペットフード、リパーゼ阻害剤及び食品における有効成分の具体例は、一般式(1)及び(11)において次のように示される。

【0012】

【表1】

| 化合物名 | 一般式 (1) | | | | | | | |
|--------------------|------------------------|------------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|------------------|
| | R ¹ | R ² | R ³ | R ⁴ | R ⁵ | R ⁶ | R ⁷ | R ⁸ |
| オレアノール酸 | -OH | -CH ₃ | -CH ₃ | -COOH | -H | -H | -CH ₃ | -CH ₃ |
| オレアノール酸の 7メチル化物 | -OC(O)-CH ₃ | -CH ₃ | -CH ₃ | -COOH | -H | -H | -CH ₃ | -CH ₃ |
| ウルソ酸 | -OH | -CH ₃ | -CH ₃ | -COOH | -CH ₃ | -H | -H | -CH ₃ |
| ウルソ酸の 7メチル化物 | -OC(O)-CH ₃ | -CH ₃ | -CH ₃ | -COOH | -CH ₃ | -H | -H | -CH ₃ |

| 化合物名 | R ⁹ | R ¹⁰ | R ¹¹ | R ¹² |
|-------------|------------------------|------------------|------------------|---------------------|
| ベツリン | -OH | -CH ₃ | -CH ₃ | -CH ₂ OH |
| ベツリンの7メチル化物 | -OC(O)-CH ₃ | -CH ₃ | -CH ₃ | -CH ₂ OH |
| ベツリン酸 | -OH | -CH ₃ | -CH ₃ | -COOH |

【0013】オレアノール酸 (Oleanolic acid) はβ-アミリン系トリテルペン的一种であって、各種植物に含まれている。例えばオリーブ葉、センブリ、チョウジ、ブドウ果皮に遊離状態で含まれていて、チクセツニンジン、ニンジン、サトウダイコンなどにはサポニンとして存在し、酸加水分解物からも得られる。また、オレアノール酸は青じそに含まれていることが知られている。オレアノール酸について、制癌作用、抗炎症作用、抗リウマチ作用、抗糖尿病作用 (特開昭55-122715号公報)、発癌プロモーター抑制作用 (特開昭63-57519号公報)、う蝕予防作用 (特開昭61-36213号公報) が既に知られている。一方ウルソ酸 (Ursolic acid) はウルソール酸ともいい、α-アミリン系トリテルペン的一种である。ウルソ酸はリンゴ、サクランボなどの種々の果実や葉の表面のろう状物質などの中に存在する。オレアノール酸、ウルソ酸は極めて毒性の低いものと考えられる。

【0014】ベツリン (Betulin) 及びベツリン酸 (Betulic acid) は、ルペオール系トリテルペンに属する。ベツリン、ベツリン酸は、白樺などのカバノキ科植物の葉、樹皮、根又は木部に含まれていることが知られている。白樺は、カバノキ科 (Betulaceae)、カバノキ属 (Betula) に属する植物で、世界各地に分布しているいかなるものでも使用することができる。白樺の一例としては、例えば、*B. ermanii* Chamisso var. *communis* Koidz (ダケカンバ)、*B. platyphylla* Sukatchev var. *japonica* Hara (シラカンバ)、*B. davurica* Pall. (ヤエガワカンバ)、*B. schmidtii* Regel (オノオレ)、*B. globispica* Shirai (ジゾウカンバ)、*B. costata* Traut. (コスタータカンバ)、*Betula alba* L.、*Betula lenta* L.、*Betula pendula* Roth. などが挙げられる。このように、白樺と呼ばれる樹木は、色々あり *B. platyphylla* Sukatchev var. *japonica* Hara は、日本名シラカンバであるが、白樺、シラカバ、カンバ、カバ、カバノ

キ、といわれる。白樺の葉、樹皮、木部およびこれらの混合物の主な成分としてはベツリン、ベツリン酸、betuloretinic acid のモノ・ブチルエステル、タンニン、サポニン、精油、ニコチン酸アミド、グアヤコール、クレオソート、クレゾール、石炭酸などが知られている。特にベツリンは、含量が高く樹皮の白色成分として良く知られている。この白樺の従来の利用としては、樹皮を煎じたものを神経痛、はれ物に内服する。葉も煎じて利尿薬とする。材を乾留して得たタールは、リウマチ、皮膚病に外用できる。ベツリンがリパーゼを阻害することは従来知られていなかった。「シラカバエキス」として、*Betula alba* L. または *Betula lenta* L. の葉、樹皮、木部およびこれらの混合物を精製水、エタノール、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコールまたはこれらの混液で抽出したエキスが知られている。ベツリンは、水及熱水には不溶で、更にエタノールなどの有機溶媒に対する溶解性が低いと、ベツリン自身の有用性が認知されていなかったため、市販されているエキス溶液では、その製造段階で澱として除かれていた。

【0015】本発明で使用する有効成分は、上記植物から抽出される天然品でも、あるいは合成品でもよい。これらの有効成分の合成は、常法に従って実施することができる。また有効成分として、植物からの抽出液ないし抽出物など未精製物状態で使用してもよい。抽出の際、例えばベツリンであれば、白樺の葉、樹皮、根又は木部、又はそれらの混合物を原料として溶媒を適宜選択し、具体的にはエタノール、1, 3-ブチレングリコール、メタノール等を用いて抽出することができ、そのような抽出液、抽出物を使用することができる。ベツリンが抽出される限り、通常の抽出方法が採用でき、例えば原料の3~5倍量の溶媒で80~90℃で、3~5時間の加熱還流抽出で、この操作を繰り返すこともでき、あるいは室温で1~7日間の浸漬により抽出することができる。本発明で使用する有効成分としては市場で一般に入

手できるものがあり、本発明ではそのような市販品を使用することができる。

【0016】本発明の化粧料としては、特に限定されるものではないが、例えばハンドクリーム、ヘアクリームといった各種クリーム類、乳液、シャンプー、リンス、ヘアトリートメントといったヘアケア類、ボディシャンプー、洗顔石鹸などが挙げられる。本発明でリパーゼ阻害剤を化粧料に配合する場合の添加量は、0.01～5重量%、特に0.1～3重量%配合することが好ましい。本発明の化粧料は常法に従って製造することができる。本発明の化粧料の有効成分として、特にベツリン、ベツリン酸が挙げられる。

【0017】本発明においてペットフードとは、犬、猫、ハムスター、リス等の哺乳類の愛玩動物用の食べ物のことを言う。上記リパーゼ阻害物質をペットフードに配合する割合は、ペットの種類、ペットフードの性質等、種々の因子により変化することができる。主食用ペットフードに配合する場合は、0.1～15重量%配合することが好ましく、特に0.5～10重量%程度が好ましい。配合率が0.1%以下である場合、効果があまり期待できず、15重量%を越えると原材料費が高く、コストの面で望ましくない。また、リパーゼ阻害物質をビスケットや合成ジャーキー等のスナック状のペットフードに配合する場合は15～50重量%程度、さらにタブレットや顆粒状の補助食用ペットフードに配合する場合には50重量%以上配合させることができる。スナック状のペットフードや補助食用のペットフードに配合する場合には、併せてペットの嗜好性物質を配合、またはコーティングするのが望ましい。スナック状ペットフードまたは補助食用のペットフードの給餌量はペットの体重、肥満度に合わせて決定し通常のペットフードと併用して給餌すればよい。本発明のペットフードはその形態に応じて常法に従って製造することができる。

【0018】本発明のリパーゼ阻害剤としては、特に一般式(II)記載のトリテルペン類化合物及びその誘導体からなる群から選ばれる少なくとも1種を有効成分として含有するリパーゼ阻害剤が挙げられる。本発明のリパーゼ阻害剤は、食品、健康食品に配合することができ、食品添加物の成分とすることもできる。食品中に配合する場合は、食品に対して有効成分として0.001～15重量%、特に0.01～10重量%配合することが好ましいが、食品の種類によって、上記の範囲よりも少なく、または多く配合することができる。例えば、錠薬やビスケット等の補助食用の食品に配合するときは、15重量%以上配合させることができる。食品に応じて、その製造過程で本発明のリパーゼ阻害剤を適宜配合することができる。本発明のリパーゼ阻害剤あるいは食品添加物を配合させる食品の種類はいかなるものであってもよく、例えば、パン、麺、ビスケット、ホットケーキ、錠薬等の穀粉や澱粉を含有する食品の他、ドレッシング、ドリ

ンク等を挙げることができる。

【0019】本発明のリパーゼ阻害剤は、その有効成分であるトリテルペン類化合物やその誘導体の他に添加剤を含んでもよく、例えば適当な助剤とともに任意の形態に製剤化して、経口または非経口投与が可能なリパーゼ阻害剤とすることができる。さらに、本発明のリパーゼ阻害剤は、他の有効成分を含んでもよい。

【0020】以下に、本発明のリパーゼ阻害剤の投与方法、投与量及び製剤化の方法を示す。本発明のリパーゼ阻害剤は、経口及び非経口投与のいずれも使用可能であり、経口投与する場合は、軟・硬カプセル剤又は錠剤、顆粒剤、細粒剤、散剤として投与される。非経口投与する場合は、注射剤、点滴剤及び固体制剤または懸濁粘稠液状として持続的な粘膜吸収が維持できるように坐薬のような剤型で投与され得るが、局所組織内投与、皮内、皮下、筋肉内及び静脈内注射、局所への塗布、噴霧、坐剤、膀胱内注射などの外用的投与方法等も用いることができる。投与量は、投与方法と病気の悪性度、患者の年齢、病状や一般状態、病気の進行度等に依って変化し得るが、大人では通常、1日当たり有効成分として0.5～5,000mg、小人では通常、0.5～3,000mgが適当である。本発明のリパーゼ阻害剤の有効成分の割合は、剤型によって変更され得るが、通常、経口または粘膜吸収に投与されるとき、約0.3～15.0重量%が適当であり、非経口投与されるときは、ほぼ0.01～10重量%が適当である。また、本発明のリパーゼ阻害剤の製剤化に当たっては、常法に従い、水溶液、油性製剤などにして、皮下あるいは静脈注射用製剤とすることができる。他、カプセル剤、錠剤、細粒剤等の剤型に製剤化して経口用に供することができる。

【0021】また、有効成分に長時間の保存に耐える安定性及び耐酸性を付与して薬効を完全に持続させるために、更に医薬的に許容し得る被膜を施して製剤化すれば、すぐれた安定性を有するリパーゼ阻害剤とすることができる。本発明のリパーゼ阻害剤の製剤化に用いられる界面活性剤、賦形剤、滑沢剤、佐剤及び医薬的に許容し得る被膜形成物質等を挙げれば、次の通りである。本発明のリパーゼ阻害剤の崩壊、溶出を良好ならしめるために、界面活性剤、例えばアルコール、エステル類、ポリエチレングリコール誘導体、ソルビタンの脂肪酸エステル類、硫酸化脂肪アルコール類等の1種又は2種以上を添加することができる。また、賦形剤として、例えば、蔗糖、乳糖、デンプン、結晶セルロース、マンニト、軽質無水珪酸、アルミン酸マグネシウム、メタ珪酸アルミン酸マグネシウム、合成珪酸アルミニウム、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、リン酸水素カルシウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム等の1種又は2種以上を組み合わせることで添加することができる。

【0022】滑沢剤としては、例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、硬化油等を1種または2種以上添加

することができ、また矯味剤及び矯臭剤として、食塩、サッカリン、糖、マンニット、オレンジ油、カンゾウエキス、クエン酸、ブドウ糖、メントール、ユーカリ油、リンゴ酸等の甘味剤、香料、着色剤、保存料等を含有させてもよい。懸濁剤、湿潤剤のような佐剤としては、例えば、ココナツ油、オリーブ油、ゴマ油、落花生油、乳酸カルシウム、ベニバナ油、大豆リン脂質等を含有させることができる。また、被膜形成物質としては、セルロース、糖類等の炭水化物誘導体として酢酸フタル酸セルロース (CAP)、またアクリル酸系共重合体、二塩基酸モノエステル類等のポリビニル誘導体としてアクリル酸メチル・メタアクリル酸共重合体、メタアクリル酸メチル・メタアクリル酸共重合体が挙げられる。また、上記被膜形成物質をコーティングするに際し、通常使用されるコーティング剤、例えば可塑剤の他、コーティング操作時の薬剤相互の付着防止のための各種添加剤を添加することによって被膜形成剤の性質を改良したり、コーティング操作をより容易ならしめることができる。

【0023】

【参考例1】

白樺エタノール抽出物の調製

シラカバ (*Betula alba* L.) の樹皮 (Birch) 1 kg を細切し、100%エタノール約5リットルを加えて抽出した。抽出は、80℃程度で3～5時間、加熱還流抽出をした。その後、濾過により抽出液を得た。残渣は、100%エタノール約5リットルで同様に抽出した。全抽出液を合わせ、減圧濃縮を行い、濃縮乾固物 (35 g) を得た。上記の得たエタノールエキス 20 g を水に懸濁し、濾過することにより水可溶部と不溶部とに分けることが出来る。不溶部から、凍結乾燥し、残渣を得た (16 g)。これをカラムクロマトグラフィーなどの適当な精製手段によりベツリンを得ることが出来た。市販されているベツリンと比較し、同定した。

【0024】

【参考例2】

オレアノール酸及びウルソン酸のアセチル化

オレアノール酸 100mg にピリジン 10ml と無水酢酸 5.0ml を加え、暗所にて反応させた。反応液を 6N H₂SO₄ により pH 2 付近に調整し、酢酸エチルで抽出した。飽和 NaHCO₃ とイオン交換水で洗浄、精製した。酢酸エチル層を濃縮乾固しアセチル化物の粉末を得た。ウルソン酸も同様にアセチル化を行った。ここで製造したオレアノール酸のアセチル化物及びウルソン酸のアセチル化物を、シリカゲル薄層クロマトグラフィーにて検討した。展開溶媒は、ヘキサン：メタノール＝20：1 を用いた。その結果を下表に示す。

【0025】

【表2】

| 化合物 | R F 値 |
|----------------|-------|
| オレアノール酸 | 0.46 |
| ウルソン酸 | 0.48 |
| オレアノール酸のアセチル化物 | 0.68 |
| ウルソン酸のアセチル化物 | 0.70 |

【0026】試験例1

溶解性について試験した。オレアノール酸 (シグマ社製)、ウルソン酸 (シグマ社製)、オレアノール酸のアセチル化物 (参考例2で得られたもの)、ウルソン酸のアセチル化物 (参考例2で得られたもの) を使用して、各検体 100mg に各溶媒 10ml を加え攪拌後、溶解性を観察した。評価は次のとおりである。結果を下記表3に示す。

×：攪拌後、溶解しなかった。

△：攪拌後、半分ほど溶解した。

○：攪拌後、完全に溶解した。

◎：溶媒を添加した直後に溶解した。

【0027】

【表3】

| 化合物名 | 溶媒 | | |
|----------------|-------|-------|--------|
| | エタノール | メタノール | クロロホルム |
| オレアノール酸 | × | × | △ |
| オレアノール酸のアセチル化物 | × | × | × |
| ウルソン酸 | △ | ○ | ◎ |
| ウルソン酸のアセチル化物 | △ | ○ | ◎ |

【0028】試験例2

本発明の有効成分であるオレアノール酸、ウルソン酸のリパーゼ阻害活性について試験を行った。その方法及び結果を説明する。オレアノール酸 (シグマ社製)、ウルソン酸 (シグマ社製) を使用して、各種濃度のオレアノール酸溶液、ウルソン酸溶液を調製した。基質溶液とし

て 0.1 mM の 4-メチルウンベリフェリルオレエートを含む McIlvaine 緩衝液 (0.1 M、pH 7.4) を使用し、酵素として豚膵臓由来リパーゼ (シグマ社製) を使用した。基質溶液 0.1 ml、オレアノール酸溶液あるいはウルソン酸溶液 10 μl、適量の豚膵臓由来リパーゼ及び McIlvaine 緩衝液で全量を 0.2 ml として、37℃で 20 分間酵素反応

させた。反応後、0.1N HCl 1.0mlを反応液に加えて酵素反応を止め、次にクエン酸ナトリウム溶液で反応液をpH 4.3 に調整した後、リパーゼにより基質から生成した4-メチルウンベリフェロンの蛍光を励起波長320nm、蛍光波長450nmで定量した。なお、対照として、オレアノール酸溶液やウルソン酸溶液を無添加で同様に試験した。各検体における阻害率(%)を、 $[(\text{対照の蛍光強度} - \text{各検体の蛍光強度}) / \text{対照の蛍光強度}] \times 100$ より求めた。その結果、下記表4のとおり、オレアノール酸及びウルソン酸は、12.5 $\mu\text{g/ml}$ で各々43%、59%というリパーゼ阻害率を示した。

【0029】
【表4】

| オレアノール酸の 添加量 ($\mu\text{g/ml}$) | 阻害率 (%) | ウルソン酸の 添加量 ($\mu\text{g/ml}$) | 阻害率 (%) |
|--------------------------------------|------------|------------------------------------|------------|
| 100 | 99 | 100 | 98 |
| 50 | 95 | 50 | 97 |
| 25 | 74 | 25 | 80 |
| 12.5 | 43 | 12.5 | 59 |

【0030】試験例3

豚膵臓由来リパーゼをシュードモナス (*Pseudomonas*) 由来リパーゼ (シグマ社製) にかえて、上記試験例2と同様に試験した。その結果、下表のとおり、オレアノール酸及びウルソン酸は、12.5 $\mu\text{g/ml}$ で各々47%、57%というリパーゼ阻害率を示した。

【0031】
【表5】

| オレアノール酸の 添加量 ($\mu\text{g/ml}$) | 阻害率 (%) | ウルソン酸の 添加量 ($\mu\text{g/ml}$) | 阻害率 (%) |
|--------------------------------------|------------|------------------------------------|------------|
| 100 | 97 | 100 | 98 |
| 50 | 88 | 50 | 97 |
| 25 | 56 | 25 | 65 |
| 12.5 | 47 | 12.5 | 57 |

【0032】試験例4

本発明の有効成分であるオレアノール酸のアセチル化物、ウルソン酸のアセチル化物のリパーゼ阻害活性について試験を行った。参考例2で得られたオレアノール酸のアセチル化物、ウルソン酸のアセチル化物を使用して、各種濃度の検体溶液を調製した。基質溶液として0.1mMの4-メチルウンベリフェリルオレートを含むMcIlvaine 緩衝液 (0.1M、pH7.4) を使用し、酵素として豚膵臓由来リパーゼ (シグマ社製) を使用した。基質溶液 0.1ml、検体溶液 10 μl 、適量の豚膵臓由来リパーゼ及びMcIlvaine 緩衝液で全量を0.2mlとして、37 $^{\circ}\text{C}$ で20分間酵素反応させた。反応後、0.1N HCl 1.0ml を反応液に加えて酵素反応を止め、次にクエン酸ナトリウム溶

液で反応液をpH4.3 に調整した後、リパーゼにより基質から生成した4-メチルウンベリフェロンの蛍光を励起波長 320nm、蛍光波長 450nmで定量した。なお、対照として、検体溶液を無添加で同様に試験した。各検体における阻害率(%)を、 $[(\text{対照の蛍光強度} - \text{各検体の蛍光強度}) / \text{対照の蛍光強度}] \times 100$ より求めた。その結果、下記表6のとおり、オレアノール酸のアセチル化物、ウルソン酸のアセチル化物は、12.5 $\mu\text{g/ml}$ で各々、67%及び40%というリパーゼ阻害率を示した。50%阻害濃度 (IC₅₀) はそれぞれ、8.33 $\mu\text{g/ml}$ 、及び16.93 $\mu\text{g/ml}$ であった。

【0033】

【表6】

| オレアノール酸のアセチル化物 の添加量 ($\mu\text{g/ml}$) | 阻害率 (%) | ウルソン酸のアセチル化物 の添加量 ($\mu\text{g/ml}$) | 阻害率 (%) |
|---|------------|---|------------|
| 25 | 76 | 50 | 80 |
| 12.5 | 67 | 25 | 63 |
| 6.25 | 39 | 12.5 | 40 |

【0034】試験例5

豚膵臓由来リパーゼをシュードモナス (Pseudomonas) 由来リパーゼ (シグマ社製) にかえて、上記試験例4と同様に試験した。その結果、下記表7のとおり、オレオノール酸のアセチル化物、ウルソン酸のアセチル化物

は、12.5 $\mu\text{g/ml}$ で各々、88%及び55%というリパーゼ阻害率を示した。50%阻害濃度 (IC50) はそれぞれ、4.44 $\mu\text{g/ml}$ 、及び10.45 $\mu\text{g/ml}$ であった。

【0035】

【表7】

| オレオノール酸のアセチル化物 の添加量 ($\mu\text{g/ml}$) | 阻害率 (%) | ウルソン酸のアセチル化物 の添加量 ($\mu\text{g/ml}$) | 阻害率 (%) |
|---|------------|---|------------|
| 25 | 89 | 50 | 95 |
| 12.5 | 88 | 25 | 86 |
| 6.25 | 56 | 12.5 | 55 |

【0036】試験例6

白樺エタノール抽出物及び白樺エタノール抽出物水不溶部 (上記参考例1)、さらにベツリン (Aldrich Chemical Company Inc. 製) 及びベツリン酸 (Aldrich Chemical Company Inc. 製) を用いて、それらのリパーゼ阻害活性について、酵素として豚膵臓由来リパーゼ (シグマ社製) とシュードモナス由来リパーゼ (シグマ社製) を

使用して試験した。その方法及び操作は、上記試験例2及び試験例3に従った。なお、対照としては、ベツリン、ベツリン酸の検体溶液を無添加で行った。その結果、50%阻害濃度は以下のとおりであった。

【0037】

【表8】

| | 50%阻害濃度 ($\mu\text{g/ml}$) | |
|----------------|------------------------------|-----------|
| | シュードモナス由来リパーゼ | 豚膵臓由来リパーゼ |
| 白樺エタノール抽出物 | 1.0 | 3.6 |
| 白樺エタノール抽出物水不溶部 | 1.1 | 3.9 |
| ベツリン | 3.5 | 11.5 |
| ベツリン酸 | 3.1 | 12.9 |

【0038】

【発明の効果】本発明のリパーゼ阻害物質は、高いリパーゼ阻害活性を有している。よって、それを化粧品に含ませることにより、皮脂がバクテリア由来リパーゼにより分解されることを防止し、「ふきでもの」「ニキビ」「肌荒れ」「異臭」を持続的に抑制することができる化粧品を提供できる。本発明のリパーゼ阻害物質はまた、食品やペットフードに含ませることにより、油脂を含む食品のリパーゼに起因する食品やペットフードの劣化防止に利用することができる。食品や飼料のカロリーを減少させることもできるので産業上有用である。さらに、

脂質の過剰摂取による肥満や高脂血症など、近年の食生活を反映している成人病予防にも有用である。本発明のリパーゼ阻害物質は人と同様に、犬、猫等のペットでも栄養過多等の原因からなる種々の疾病予防に有用である。

【0039】以下本発明を実施例により説明する。

【実施例1】

シャンプーの調製

下記配合 (単位: 重量%) により、シャンプーを常法に従って製造した。

| | |
|------------------------|------|
| ラウリルエーテル (2EO) 硫酸ナトリウム | 40.0 |
| 加水分解性コラーゲン | 10.0 |
| 両性界面活性剤 (35%) | 6.0 |
| ラウリン酸ジエタノールアミド | 2.0 |
| エチレングリコールジステアレート | 1.5 |
| 塩化ステアリルトリメチルアンモニウム | 0.5 |
| ベツリン酸 | 0.5 |
| カチオン性セルロース | 0.3 |
| パラベン | 0.3 |
| エデト酢酸 | 0.1 |
| クエン酸 | 0.1 |

| | | |
|----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| 【0040】 【実施例2】 リンスの調製 | 香料 | 適量 |
| | イオン交換水で | 100.0とする。 |
| | | 下記配合（単位：重量％）により、リンスを常法に従って製造した。 |
| 【0041】 【実施例3】 ヘアートニックの調製 | 加水分解性コラーゲン | 3.0 |
| | 塩化ジステアリルジメチルアンモニウム | 2.5 |
| | セタノール | 1.5 |
| | エチレングリコールジステアレート | 1.5 |
| | 1,3-ブチレングリコール | 1.0 |
| | 白樺エタノール抽出物 | 0.5 |
| | イソステアリン酸イソプロピル | 0.5 |
| | パラベン | 0.5 |
| | 香料 | 適量 |
| | クエン酸でpH5～6に調整 | |
| | イオン交換水で | 100.0とする。 |
| | 下記配合（単位：重量％）により、ヘアートニックを常法に従って製造した。 | |
| 【0042】 【実施例4】 ボディーシャンプーの調製 | エタノール | 70.0 |
| | 10% ラウリン酸1,3-ブチレングリコール溶液 | 1.0 |
| | レーメントール | 0.8 |
| | パントテン酸カルシウム | 0.5 |
| | 白樺エタノール抽出物水不溶部 | 0.3 |
| | パラベン | 0.2 |
| | エデト酢酸 | 0.01 |
| | 香料 | 適量 |
| | イオン交換水で | 100.0とする。 |
| | 下記配合（単位：重量％）により、ボディーシャンプーを常法に従って製造した。 | |
| | ヤシカリ石鹼（35%） | 30.0 |
| | コラーゲンペプタイド | 10.0 |
| | ヤシ脂肪酸ジエタノールアמיד | 9.0 |
| 【0043】 【実施例5】 乳液の調製 | トリエタノールアミン | 4.0 |
| | ラウリン酸 | 2.0 |
| | 水酸化カリウム | 0.5 |
| | 白樺エタノール抽出物 | 0.5 |
| | パラベン | 0.5 |
| | エデト酢酸 | 0.1 |
| | 香料 | 適量 |
| | イオン交換水で | 100.0とする。 |
| | 下記配合（単位：重量％）により、乳液を常法に従って製造した。 | |
| | 流動パラフィン | 30.0 |
| | 固型パラフィン | 5.0 |
| | セチルアルコール | 5.0 |
| | ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレート | 3.0 |
| | ソルビタンモノステアレート | 2.0 |

| | |
|---------|------------|
| ベツリン | 0. 2 |
| パラベン | 0. 3 |
| 香料 | 0. 1 |
| イオン交換水で | 100. 0とする。 |

【0044】

下記配合（単位：重量％）により、クリームを常法に従って製造した。

【実施例6】

フェイススクリームの調製

| | |
|-------------------|------------|
| イソステアリン酸イソプロピル | 8. 0 |
| ホホバ油 | 6. 0 |
| セタノール | 8. 0 |
| ポリオキシエチレン라우リルエーテル | 1. 5 |
| プロピレングリコール | 6. 0 |
| ソルビトール | 1. 0 |
| ベツリン | 0. 1 |
| パラベン | 0. 4 |
| 香料 | 適宜 |
| イオン交換水で | 100. 0とする。 |

【0045】

【実施例8】

【実施例7】

スナック状ペットフードの製造

健康食品（ショートブレッド）の製造

下記配合（単位：重量％）により、スナック状ペットフードを製造した。

下記配合（単位：重量％）により、健康食品（ショートブレッド）を製造した。

| | |
|------------|-------|
| 小麦粉 | 48. 0 |
| マーガリン | 24. 0 |
| 上白糖 | 15. 0 |
| 全卵 | 10. 0 |
| 食塩 | 0. 5 |
| 香料 | 0. 5 |
| 白樺エタノール抽出物 | 2. 0 |

| | |
|---------------|-------|
| 小麦粉 | 60. 0 |
| 脱脂大豆 | 10. 0 |
| 牛脂 | 5. 0 |
| ミートミール | 3. 6 |
| ビタミン・ミネラルミックス | 1. 0 |
| 重炭酸水素ナトリウム | 0. 2 |
| 重炭酸アンモニウム | 0. 2 |
| ベツリン | 1. 0 |
| ビタミンE | 0. 5 |

上白糖、マーガリン、香料、食塩、白樺エタノール抽出物をよく混ぜた中に、卵を入れ、更によく混ぜる。小麦粉を加え、軽く混ぜた後、成形し、200℃、10分間焼いて、ショートブレッドを得た。

上記からなる組成物に対して、20重量％の水を加え、常法によりドウを作成し、成形後、焙焼してビスケットタイプスナック状のペットフードを得た。

【0046】

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6

識別記号

F I

A 2 3 K 1/165
1/18
A 2 3 L 1/30
A 6 1 K 7/48
31/045
31/19
31/215
31/56

A 2 3 K 1/165
1/18
A 2 3 L 1/30
A 6 1 K 7/48
31/045
31/19
31/215
31/56

A
A
Z

ACN
ADN
ADP
AED

ACN
ADN
ADP
AED

(13)

特開平 1 0 - 2 6 5 3 2 8

C 1 2 N 9/99
// A 6 1 K 35/78

C 1 2 N 9/99
A 6 1 K 35/78

C